

# ANKARA YÖRESİNDEN ELDE EDİLEN THEILERIA ANNULATA (Dschunkowsky and Luhs, 1904) İZOLATLARI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR<sup>1</sup>

## 4.Vektör Kenelerin *Theileria annulata* ile Deneysel Enfeksiyonları

*F.Sayın<sup>2</sup>, Ş.Dinçer<sup>2</sup>, Z.Karaer<sup>2</sup>, A.Çakmak<sup>2</sup>, A.İnci<sup>3</sup>, B.A.Yukarı<sup>4</sup>, H.Eren<sup>5</sup>,  
C.G.D. Brown<sup>6</sup> and M.T.R. Melrose<sup>6</sup>*

### Investigations on the *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) Stocks Isolated Around Ankara

#### 4. Experimental Infection of Vector Ticks with *Theileria Annulata*

**Summary:** *A preliminary tick transmission study was carried out on 7 experimentally and 1 naturally infected calves with Theileria annulata blood stabilates collected from different areas of Ankara. The infection rates and number of infected acini in the ticks engorged on the infected calves were estimated. The results showed that the infection percent with T.annulata varied from 17 to 100 in Hyalomma anatolicum anatolicum and from 60 to 75 in Hyalomma detritum. Mean number of infected acini per tick was between 2.1 and 410.0 in H.a.anatolicum, 8.8 and 23.3 in H.detritum. Infection rate was high in the ticks engorged on calves carried heavy parasitemia as compare with the ticks engorged on those carried low parasitemia.*

**Key words:** *T. annulata, H.a.anatolicum, H.a.excavatum, H.detritum, experimental infection*

**Özet:** *Ankara'nın değişik yörelerinden elde edilen Theileria annulata kan stabilatları ile deneysel olarak enfekte edilen 7 ve doğal enfekte 1 dana üzerinde steril Hyalomma a.anatolicum ve Hyalomma detritum'un aç olgunları beslenmiş, bunların enfeksiyon oranları ile enfekte asini sayıları saptanmıştır. Hyalomma a.anatolicum'un T.annulata ile enfeksiyon yüzdesi 17-100 arasında, H.detritum'un enfeksiyon yüzdesi 60-75 arasında değişmiştir. Kene başına düşen enfekte asini ortalaması H.a.anatolicum'da 2.1-410, H.detritum'da 8.8- 23.3 olmuştur. Parazitemi oranı yüksek olan danalar üzerinde beslenen kenelerde enfeksiyon yüzdesi, parazitemi oranı düşük olanlar üzerinde beslenenlere göre, yüksek bulunmuştur.*

**Anahtar sözcükler:** *T.annulata, H.a.anatolicum, H.a.excavatum, H.detritum, deneysel enfeksiyon*

1 Bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 87-10-00-01 no'lu proje olarak desteklenmiştir.  
2 Ank.Üniv. Veteriner Fakültesi, Protozooloji ve Entomoloji Bilim Dalı, Ankara  
3 Erciyes Üniv. Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri  
4 Akdeniz Üniv. Burdur Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı  
5 Adnan Menderes Üniv. Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı  
6 Centre for Tropical Veterinary Medicine, Royal School of Veterinary Studies, University of Edinburgh

## Giriş

Bugüne kadar değişik ülkelerde çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarla, gerek deneysel şartlarda (1,2,5,16,17) gerekse doğal olarak (4,11,13,15,21) tropikal theileriosis'in *Hyalomma* soyuna bağlı kenelerle sığırlara taşındığı ortaya konmuştur. Tropikal theileriosis'in genellikle mera ve bazen de ahır enfeksiyonu olarak ortaya çıktığı, ahır enfeksiyonundan *Hyalomma detritum*'un (21), mera enfeksiyonundan *H.a.anatolicum*, *H.a.excavatum* ve *H.detritum*'un (14,15) sorumlu oldukları bildirilmiştir.

Sığırlarda tropikal theileriosis'in yaygın olduğu Türkiye'de, bu kene türlerinin yaygın olduğu belirtilmiş (7,8,10,18), ancak tropikal theileriosis ile mevcut kene türlerinin ilişkileri üzerinde durulmamıştır. Bu kene türlerinden bir laboratuvar kolonisi de yetiştirilmemiştir.

Bu çalışma, tropikal theileriosis'in vektörü *H.a.anatolicum*, *H.a.excavatum* ve *H.detritum*'un *Theileria annulata* ile enfekte olma durumlarını saptamak amacıyla yapılmıştır.

## Materyal ve Metot

### a) Deneysel hayvanları:

Bu çalışmada deney hayvanı olarak 2-2.5 aylık steril 8 Holstein danası, 18 steril tavşan kullanılmıştır. Danalar Bala Tarım İşletmesi Müdürlüğünden satın alınmışlardır. Bunlar deney boyunca Veteriner Fakültesi, deney hayvanları binasında zemini beton ve daha önce hayvan girmemiş bir odada barındırılmışlardır.

Tavşanlar yaklaşık 10 yıl önce Tarım Bakanlığı'nın Ankara'daki Tavukçuluk Enstitüsünden alınan damızlıklardan üretilmişlerdir. Bunlar da Veteriner Fakültesi deney hayvanları binasında ayrı bir odada kafesler içinde tutulmuşlardır.

Deney danalarının *T.annulata* ile enfekte kanla inokule edilmesinden önce ve sonra izlenmeleri, bu çalışmanın ilk bölümünde açıklanmıştır (19).

### b) Deneysel kullanılan keneler:

Deneysel kullanılan kenelerin temin edildiği yerler, steril kenelerin üretilmesi ve muhafazası bu araştırmanın 3 nolu bölümünde açıklandığı şekilde yapılmıştır (20).

### c) Steril kenelerin *T.annulata* ile enfekte edilmeleri:

*Theileria annulata* ile vektör kenelerin enfekte edilmesinde Walker ve ark. (25) önerdikleri yöntemden yararlanılmıştır. Yukarıda belirtilen yöntemle üretilen ve 18°C ve %85 nispi nem taşıyan inkübatör'de muhafaza edilen *H.a.anatolicum*, *H.a.excavatum* ve *H.detritum*'un aç nimfleri *T.annulata* ile enfeksiyon deneylerinde kullanılmışlardır.

*Theileria annulata* ile enfekte edilmiş 8 danadan 2'sinin kulağına *H.detritum*, 2'sinin kulağına *H.a.anatolicum*, 2'sinin kulağına *H.a.excavatum*'dan 1000'er adet steril aç nimf konmuştur. Kalan 2 danadan birinin bir kulağına *H.a.anatolicum*, diğer kulağına *H.detritum* nimfleri, 2'incisinin bir kulağına *H.detritum*, diğer kulağına *H.a.excavatum*'un aç nimfleri usulüne uygun olarak konmuştur (20).

Nimfler doyararak konak hayvanı terkedip torbaya düştükten sonra, günlük olarak toplanmışlardır. Bunlar, üzerinde beslendikleri danalara ve kendi türlerine göre ayrı cam tüplere yerleştirilmişlerdir. Ağız pamukla kapatılan bu tüpler 28°C ve %85 rutubetteki inkübatöre konmuşlar, ihtiva ettikleri nimfler gömlek değiştirip aç olgun kene haline gelene kadar (yaklaşık 28 gün) bekletilmişlerdir. Aç olgun keneler daha sonra, yine cam tüpler içinde 18°C ve %85 nemdeki inkübatöre alınmışlardır.

### d) *Theileria annulata* ile enfekte kenelerin saptanması:

*Theileria annulata* ile enfekte danalardan kan emip doyan nimflerden meydana gelen aç olgun kenelerde enfeksiyon durumunu saptamak için, erkek ve dişi keneler birlikte (20), bir tavşanın kulağına takılan torbaya konmuş, 3 gün tavşandan kan emmeleri sağlanmış, sonra tavşanın kulağından toplanıp, en fazla 2-3 gün, 28°C ve %85 nispi nemi olan inkübatörde bek-

letilmişlerdir. Daha sonra bu keneler stereomikroskop altında diseke edilmişlerdir.

Bu amaçla kenenin basis capituli kısmından, dorsoventral istikamette kalın ve uzun bir iğne geçirilmiştir. Kenenin dorsal yüzü üstte olacak ve ventral yüzü balmumuna temas etmeyecek şekilde, iğnenin ucu petri kutusu içindeki kalın balmumu tabakasına saplanmıştır. Petri kutusu stereomikroskop altına konmuş, kenenin dorsal yüzü ile ventral yüzünün birleşmesinden meydana gelen kenar kısmı, boydan boya ince uçlu mikrocerrahi makası ile kesilmiş, dorsal kabuk ince uçlu mikrocerrahi pensi ile çekilerek yerinden ayrılmış, bunu takiben pensle kenenin barsakları tutulup arkaya çekilmiş ve tükürük bezi açığa çıkarılmıştır. Daha sonra tükürük bezinin her iki lobu ayrı ayrı, pens ve diseksiyon iğnesi yardımıyla diseke edilerek üzerinde bir miktar RPMI\_1640 komple vasatı bulunan lam üzerine alınmıştır. Yine pens ve diseksiyon iğnesi ile tükürük bezinin bağlantı lifleri birbirinden ayrılarak lam üzerine yayılmıştır. Böylece asinilerin mikroskop altında tek tek incelenmesi mümkün olmuştur.

**e) Enfekte tükürük bezinde *T.annulata* sporoblastlarının saptanması:**

Walker ve McKeller (23,24)'in önerdikleri yöntemden yararlanılarak kenelerin tükürük bezi boyanmış ve *T.annulata*'nın sporoblastlarını taşıyıp taşımadıkları mikroskop altında incelenmiştir.

Bu amaçla diseke edilerek temiz bir lam üzerine yayılan parazitten şüpheli tükürük bezi, Carnoy sıvısında (%60 alkol+ %30 kloroform+ %10 glasiyal asetik asit) 2-5 dakika tespit edilmiş, 2 dakika distile suda yıkanmış, 7 dakika Methylgreen/ Pyronin boyası (1 ml %2 Methyl green+ 0.5 ml %2 Pyronin+ 25 ml 1 M acetate buffer, pH= 4.8+ 25 ml saf su) ile boyanmış, havada kurutulduktan sonra lamın üzeri 1 damla Hoyer mahlülü damlatıldıktan sonra lamelle kapatılmış, lam lamel arasında hava kibarlığı kalmaması için monte edilen preparat 37°C de etüvde kurumaya terkedilmiştir. Biraz kuruduktan sonra 10X büyütme ile mikroskop altında incelenmiştir.

**f) Enfekte kenelerin tükürük bezlerinden sporozoitlerin izolasyonu:**

Enfekte kenelerin tükürük bezlerinden sporozoitleri izole etmek için, 1-6 ay önce gömlek değiştirmiş, enfeksiyon oranları %50-75 olan erkek ve dişi karışımı, aç olgun kenelerden 100'er adet, bir tavşanın her iki kulağına takılan torbalara konmuştur. Yirmi dört saat sonra kontrol edilerek, tavşanın kulağına tuttukları anlaşılan kenelerin 3 gün kan emmelerine müsaade edilmiştir. Daha sonra keneler tavşanın kulağından toplanmış, çay süzgecine konarak önce soğuk basınçlı suda yıkayıp temizlenmiş, 2 defa %70'lik alkolde yıkanarak steril kaba alınmış, tekrar %70'lik alkolden geçirilmiştir. Sonra 200 IU/ml penicillin, 200 µg/ ml streptomycin ve 100 µg/ ml nystatin karıştırılmış Hanks solusyonu içeren ılık Eagles Minimum Essential Medium (MEM) ile 3 defa yıkanmıştır. Bunu takiben keneler steril bir havana aktarılmış, üzerine %1 Bovine Plasma Albumin (BPA) V fraksiyonu, 200 IU/ml penicillin, 200 µg/ ml streptomycin, 100 µg/ ml nystatin ihtiva eden Magnezyum<sup>++</sup>'dan yoksun Hanks Balance Salt (Hanks/BPA) solusyonu ilave edilmiş (50 kene için 10 ml Hanks/BPA solusyonu kullanılmıştır) ve keneler havanda ezilmiştir.

Elde edilen kene süspansiyonu +4°C'de 750 devirde 5 dakika santrüfuj edilerek, üstteki sıvı steril bir enjektörle çekilmiş ve bu sıvı sırasıyla geniş gözenekli (AP25), dar gözenekli 8 µm sellüloz ester-MF- filtreten geçirilmiştir. Süzüntüden bir miktar örnek alınarak hücre santrifujünde (cytospin) froti hazırlanmıştır. Bu froti, metil alkol (BDH, 360484L) ile 5 dakika tespit edildikten sonra, % 5'lik Giemsa boyası (BDH, Gurr, No.350144M) solusyonu (5 ml Giemsa boyası + 95 ml distile su, pH 7.2) içeren bir kaba daldırılarak 40 dakika boyanmıştır. Boyama süresinin sonunda frotiler distile su ile yıkayıp havada kurumaya terk edilmiştir. Daha sonra 100 X apokromatik plan objektif ile bu frotiler incelenmiş ve sporozoitler saptanmıştır.

**g) Sporozoitlerin canlı olarak muayenesi:**

Sporozoitleri canlı olarak muhafaza etmek için Eagles Minimum Essential Medium'a

Tablo 1. Değişik kökenli *T.annulata* izolatları ile enfekte edilen danalarda beslenen *Hyalomma* türlerine ait nimflerden meydana gelen enfeksiyondan şüpheli olgun keneler.

Table 1. Adult ticks moulted from *Hyalomma* nymphs engorged on the calves infected with *T.annulata* isolated from different areas

Dananın numarası	İzolatin kökeni	<i>H.detrutum</i>		<i>H.a.anatolicum</i>		<i>H.a.excavatum</i>	
		Konan Nimf Adeti	Olgun Adet	Konan Nimf adeti	Olgun adet	Konan Nimf adeti	Olgun adet
86-115	Hıdırsih	0	0	500	300	0	0
86-101	Eryaman-1	0	0	800	350	0	0
87-75	Gülseren	0	0	250	150	0	0
87-77**	Bala*	0	0	250	0	0	0
88-101	Köseli*	0	0	200	26	200	1
88-102	Balçikhisar	600	500	200	70	0	0
88-103	Emirler*	0	0	200	16	200	0
88-104	Eryaman-2	1000	600	0	0	200	0

\* : *T.annulata* enfeksiyonundan öldü.

\*\* : Doğal olarak enfekte oldu.

\* : Died due to *T.annulata* infection

\*\* : Natural infection

(MEM) % 3.5 oranında Bovine Plasma Albumin (BPA) katılmış ve bu karışımın (MEM/BPA) içine %15 oranında 37°C'de steril glycerol ilave edilmiş, pipetlenerek iyice karıştırılmış, bu karışımdan eşit hacimde sporozoit ihtiva eden süzütünün üzerine damla damla ilave edilmiştir. Bu sırada sporozoit süzütüsü hafifçe çalkalanmıştır. Elde edilen bu süspansiyonu ihtiva eden tüp 20°C'de 30 dakika dik olarak bekletilmiştir. Sonra devamlı karıştırılarak bu süspansiyondan 2'şer ml çekilmiş ve bunlar 2 ml'lik şişelere aktarılmıştır. Ağız kapatılan şişeler 30 dakika bekletildikten sonra paketlenmiş, üzeri etiketlenerek dik vaziyette bir gece - 70°C'lik derin dondurucuda bekletilmiştir. Ertesi gün likit nitrojen tankına (-196°C) aktarılan şişeler orada muhafaza edilmişlerdir.

### Bulgular

Kan emip doymaları için değişik kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile enfekte edilmiş olan danalara konan steril aç nimflerin türü, sayısı ve bunlardan elde edilen aç olgun kene sayısı tablo 1'de belirtilmiştir.

Bu tabloda görüldüğü gibi Balçikhisar kökenli kan stabilatı ile enfekte edilen 88-102

Nolu danaya konan 600 adet *H.detrutum* ve 200 adet *H.a.anatolicum*'un aç nimflerinin sırasıyla, 500 ve 70 adedi gömlek değiştirip aç olgun kene haline gelmişlerdir.

Emirler kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile inokule edilen 88-103 nolu danaya konan 200 adet *H.a.anatolicum*'un ve 200 adet *H.a.excavatum*'un aç nimflerinden sadece 16 *Hyalomma.a. anatolicum* nimfi aç olgun kene haline gelmiş; *H.a.excavatum*'un nimflerinden hiç biri kan emip doymamış, dolayısıyla gömlek değiştirip aç olgun kene haline gelmemişlerdir.

Eryaman-2 kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile inokule edilen 88-104 numaralı danaya konan 1000 adet *H.detrutum* ve 200 adet *H.a.excavatum* nimflerinden sadece 600 *H.detrutum* nimfi aç olgun hale gelirken, ikincisinin nimflerinden hiçbirisi aç olgun hale gelmemiştir.

Hıdırsih, Eryaman-1 ve Gülseren kökenli *T.annulata* kan stabilatları ile inokule edilen 86-115, 86-101, 87-75 numaralı danalarla, doğal olarak enfekte olan 87-77 (Bala TİGEM) numaralı danaya enfeksiyon için konan sırasıyla 500,800,250 ve 250 adet *H.a.anatolicum* nimfinin ilk 3'ünden sırasıyla 300, 350 ve 150

Tablo 2. Nimf döneminde tropikal theileriosis'li danalar üzerinde beslenen olgun kenelerin *T. annulata* ile enfektivite durumları.Table 2. Infection rate in the adult ticks moulted from the nymphs engorged on the calves infected with *T.annulata*

Parametreler	Ergin safhaya gelebilmiş kenelerin beslendiği danaların numarası					
	86-115	86-101	87-75	87-102	88-104	
Kene türü	<i>H.a.an.</i>	<i>H.a.an.</i>	<i>H.a.an.</i>	<i>H.a.an.</i>	<i>H.det.</i>	<i>H.det.</i>
Parazitemi (%)	8.0	1.0	3.8	4.0	4.0	1.0
Açılan kene (n)	10	6	9	4	4	8
Enfekte kene (n)	10	1	7	3	3	5
Enfeksiyon (%)	100	17	79	75	75	60
Enfekte asini (Ma)	1262	13	27	17	15	130
Enfekte asini (Mi)	4	0	1	3	6	2
Enfekte asini (Ort)	410.0	2.1	11.0	7.5	8.8	23.3

n: sayı; Ma: Bir kenede saptanan maximum enfekte asini sayısı; Mi: Bir kenede saptanan minimum enfekte asini sayısı; Ort: Kene başına düşen ortalama asini sayısı *H.a.an.*: *Hyalomma anatolicum anatolicum*; *H.det.*: *Hyalomma detritum*

n: Number. Ma: Maximal number of infected asini in a tick, Mi: Minimum number of infected asini in a tick. Ort: Mean number of infected asini per tick, *H.a.an.*: *Hyalomma anatolicum anatolicum*; *H.det.*: *Hyalomma detritum*

adet olgun kene elde edilmiştir. Sonuncu dana kısa süre içinde tropical theileriosis'den öldüğünden nimfler kan emip doymaya zaman bulamamışlar, bu nedenle olgun kene elde edilememiştir.

Aç olgun kenelerin aktivasyonundan sonra (3 gün tavşandan kan emerek yarı doyduktan sonra) yapılan enfektivite testlerinin sonuçları Tablo 2'de belirtilmiştir.

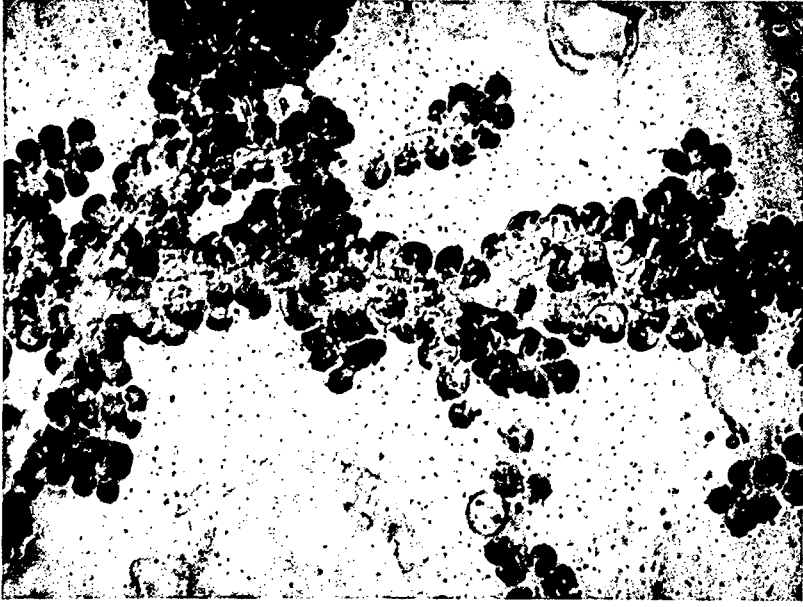
Bu tablo'da görüldüğü gibi, deneyde kullanılan toplam 8 enfekte danadan 6'sında beslenen kenelerde *T.annulata* enfeksiyonu saptanmıştır. Geri kalan 2 dana, enfeksiyondan kısa süre sonra öldüğünden, üzerinde beslenen nimfler kanla tam olarak doymadıklarından olgun duruma gelememişlerdir. Bu nedenle bunlar *T.annulata* enfeksiyonu bakımından kontrol edilememişlerdir. Enfekte ve enfekte olmayan kenelerin tükürük bezleri Resim 1 ve Resim 2'de, enfekte tükürük bezlerinden izole edilen *T.annulata*'nın sporozoitleri Resim 3'te gösterilmiştir.

Tablo 2'de belirtildiği gibi enfekte 6 dana üzerinde beslenip gelişmesini tamamlayan kenelerden Hıdırşık kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile enfekte edilen 86/115 numaralı danada beslenen *H.a.anatolicum*'dan 10 kene diseke

edilmiş ve bunların tükürük bezi asinilerinde de 4 ile 1262 arasında değişen sayıda, *T.annulata*'nın sporoblastları ile enfekte asini bulunmuştur. Sporoblastları, III'üncü tip asiniler içinde, mavi-yeşilimsi pembe renkte kiteller halinde görmek mümkün olmuştur. Açılan kenelerde enfeksiyon oranının % 100, bir kenedeki enfekte asini ortalamasının 410 olduğu saptanmıştır.

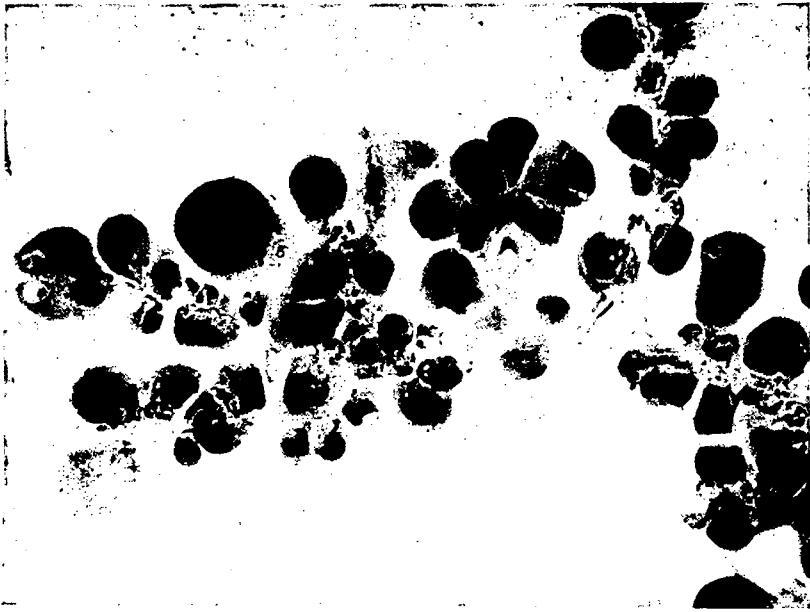
Eryaman-1 kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile enfekte 86/ 101 numaralı danada beslenen *H.a.anatolicum*'dan 6 kene diseke edilmiş ve bunlardan sadece birinin enfekte olduğu görülmüştür. Bu enfekte kenenin tükürük bezinde 13 asininin sporoblast taşıdığı saptanmıştır. Buna göre diseke edilen kenelerde enfeksiyon oranının % 17, bir kenedeki sporoblastla enfekte asini ortalamasının 2.1 olduğu anlaşılmıştır.

Gülseren kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile enfekte edilen 87/ 75 numaralı dana üzerinde beslenen *H.a.anatolicum*'dan 9 kene diseke edilmiş, bunlardan 7 (% 78.5)'sinin enfekte olduğu, enfekte kenelerin tükürük bezlerinde sporoblast taşıyan asini sayısının 1-27 arasında değiştiği ve bir kenede sporoblastla enfekte asini ortalamasının 11 olduğu anlaşılmıştır.



Resim 1: Olgun ve *T. annulata* ile enfekte olmayan bir kenenin diseke edilmiş ve methyl green/ pyronin ile boyanmış tükürük bezi asinileri (Orijinal 10x100).

Figure 1: Asini of the salivary gland dissected from a sterile tick and stained with methyl green/ pyronin



Resim 2: Olgun ve *T. annulata*'nın sporoblastları ile enfekte bir kenenin diseke edilmiş ve methyl green/ pyronin ile boyanmış tükürük bezi ve enfekte asinileri (Orijinal 10x100).

Figure 2: Asini of the salivary gland dissected from a *T. annulata* infected tick and stained with methyl green/ pyronin



**Resim 3:** *Theileria annulata* ile enfekte olgun bir keneden izole edilmiş *T.annulata* sporozoitleri (Orijinal 10x100).  
**Figure 3:** *Theileria annulata* sporozoits isolated from salivary gland of an adult tick infected with *T.annulata*

Balçıkhisar kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile enfekte 88/ 102 numaralı danada beslenen *H.a.anatolicum*'dan 4 kene diske edilmiş, bunlardan 3 (% 75)'ünün *T.annulata* ile enfekte olduğu, sporoblastla enfekte asini sayısının 3-17 arasında değiştiği ve kene başına düşen ortalama enfekte asini sayısının 7.5 olduğu anlaşılmıştır. Halbuki aynı danada beslenen *H.detrutum*'dan diske edilen 4 kenede bu değerler sırasıyla, % 75, 6-15 ve 8.8 olarak bulunmuştur.

Eryaman-2 kökenli kan stabilatı ile enfekte edilen 88/ 104 numaralı danada beslenen *H.detrutum*'dan açılan 8 keneden 5 (%60)'inin enfekte olduğu, bunlarda sporoblastla enfekte asini sayısının 2-130 arasında değiştiği, bir kenedeki sporoblastla enfekte asini ortalamasının 23.3 olduğu görülmüştür.

Hıdırşih, Eryaman-1, Balçıkhisar, Eryaman-2 ve Gülseren kökenli *T.annulata* kan stabilatları ile enfekte edilen danalarda beslenen enfekte kenelerden *T.annulata*'nın sporozoitleri izole edilmiştir. Gülseren kökenli sporozoitler ilerde çelinc deneylerinde kullanılmak üzere, dondurularak likit nitrojen tankına (-196°C) konmuştur.

### Tartışma ve Sonuç

Çeşitli araştırmacılar (4,11,12,13,15) *Hyalomma detritum* larva ve nimflerinin *T.annulata* ile enfekte sığırlardan kan emdikleri zaman paraziti aldıkları ve olgunlaştıktan sonra kan emerken onu duyarlı sığırlara naklettiklerini belirtmişlerdir. Sergent ve ark. (21) deneysel olarak *T.annulata* ile enfekte edilen *H.detrutum* larvalarının aç nimf haline geldikten sonra duyarlı sığırlardana, kan emerke paraziti naklettiğini bildirmişlerdir. Pipano (15)'ya göre ise, doğal olarak bu tür taşınmanın varlığı bilinmemektedir. Esasen, iki konutlu bir kene olan *H.detrutum* larva ve nimf safhasını bir konakta, olgun safhasını başka bir konakta geçirme zorunluğundadır. Bu sebeple bu kene türünün, doğada larva safhasında aldığı bir enfeksiyonu nimf safhasında duyarlı bir konak hayvana vermesi mümkün olmaz. Zira bu kene nimf safhasını da, larva döneminin geçtiği sığır üzerinde tamamlar. İki konutlu olması dolayısıyla, deneysel olduğu halde dahi, bu çalışmada bu keneden aç nimf elde etmede güçlük çekilmiştir. Bunun için gömlek değiştirip nimf safhasına girmeden doymuş larvaların üzerinde bulunduğu konak hayvan öldürülmüş, böylece

ondan ayrılmaları ve toplanıp inkübatöre konmaları sağlanmış, neticede gömlek değiştirip aç nimf haline gelmelerine imkan verilmiştir. Enfeksiyon deneylerinde bu aç nimfler başarıyla kullanılmışlardır.

*Hyalomma a.anatolicum* ve *H.a.excavatum* gibi 2 veya 3 konutlu keneler, larva dönemlerinde aldıkları enfeksiyonu nimf veya olgun dönemlerinde duyarlı sığırlara taşımaktadırlar (3,11,13,22).

*Hyalomma a.excavatum*'un enfekte larvası, nimf dönemini sığırdan başka bir hayvanda geçirdiği zaman, olgun dönemde enfeksiyonu duyarlı sığıra nakledebilmektedir (2,16). Fakat nimf dönemini sığırdan geçirdiği takdirde bu mümkün olmamaktadır (1,2). İki veya 3 konutlu özellik göstermesine göre, enfekte larvanın gömlek değiştirmesiyle oluşan aç nimf veya aç olgun *H.a.excavatum*'un tükürük bezi asini hücrelerinde, etrafı stoplazma ile çevrili çok sayıda kromatin granülleri saptanmış; bu keneler 24- 48 saat tavşanda beslendikten sonra mevcut kromatin granüllerinin enfektif sporozoit durumuna geldikleri görülmüştür (1,2,6).

Bu çalışmada *H.a.excavatum*'un steril kolonisini yetiştirmek ve bu türün gelişme safhalarından herhangi birini enfekte danalar üzerinde besleme imkanı olmamıştır.

Aç olgun enfekte *H.a.excavatum*'un kan emmeye başladıktan 24 saat sonra duyarlı sığıra enfeksiyonu naklettiği görülmüştür (2). Halbuki enfekte *H.detrutum* ve *H.a.excavatum*'un duyarlı sığıra enfeksiyonu verebilmeleri için 2-3 gün süreyle kan emmelerine gereksinim duyulduğu anlaşılmıştır (16,22). Diğer taraftan duyarlı bir sığırdan doyuncaya kadar kan emen enfekte erkek *H.detrutum*'un ezilmesiyle hazırlanan süspansiyonun inokule edildiği duyarlı başka bir sığırın theileriosis'e yakalandığı da saptanmıştır (16). Pipano (15) enfekte bir kenenin duyarlı bir sığırdan kan emmeye başladığı andan doyup düşünceye kadar geçen süre içinde enfeksiyonu konağa vermeye devam ettiğini ve bu sebeple tek bir kene sokmasına maruz kalsa bile sığırların şiddetli theileriosis'e yakalanabileceğini belirtmiştir. Diğer taraftan

Mazlum (9), Samish ve ark. (16), steril aç bir kenenin enfekte bir sığırdan kısa bir süre kan emmesiyle enfeksiyonu aldığını, bu kenenin ezilip duyarlı bir sığıra inokule edilmesiyle oluşan enfeksiyonla ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada ise, bu tür deneyler yapılmamıştır. Fakat enfekte aç olgun *H.a.anatolicum* ve *H.detrutum*'un 3 gün süreyle tavşandan kan emdikten sonra tükürük bezlerinde *T.annulata*'nın sporoblastlarının olgunlaşıp sporozoit olarak duyarlı sığırları enfekte edebilecek duruma geldikleri görülmüştür. Bunun yanında parazitemi oranı yüksek olan danalarda beslenen kenelerde enfeksiyon oranının, enfekte asini sayısının ve kene başına düşen enfekte asini ortalamasının yüksek olduğu anlaşılmıştır. Bu durum Hıdırşih, Gülseren ve Balçıkhisar kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile enfekte danalarda beslenen kenelerde belirgin olarak görülmüştür. Diğer taraftan Balçıkhisar kökenli *T.annulata* kan stabilatı ile enfekte edilen dana üzerinde beslenen *H.a.anatolicum* ile *H.detrutum* arasında enfeksiyon oranı, sporoblastla enfekte asini sayısı ve kene başına düşen enfekte asini ortalamasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

### Kaynaklar

1. **Bhattacharyulu, Y., Chaudhri, R.P., Gill, B.S.** (1975) Studies on the development of *Theileria annulata* in the tick *Hyalomma anatolicum anatolicum*. Ann Parasit, 50 (4): 397- 408.
2. **Bhattacharyulu, Y., Chaudhri, R.P., Gill, B.S.** (1975) Transstadial transmission of *Theileria annulata* through common ixodid ticks infesting Indian cattle. Parasitology, 71: 1-7.
3. **Barnett, S.F.** (1968) Theileriosis in Infectious Blood Diseases of Man and Animals, Diseases Caused by Protista. Ed: D.Weinman and M.Ristic. Vol. II. Academic Press, London.
4. **Barnett, S.F.** (1977) *Theileria*, in Parasitic Protozoa IV. Ed: J.P.Kreier, Academic Press, London.
5. **Daubney, R., Sami Said, M.** (1951) Egyptian fever of cattle. The transmission of *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Lush, 1904) by *Hyalomma excavatum*. Parasitologie, 14: 249-260 (Ref: Vet Bull, 23,7,299, 1953).
6. **Hadani, A., Pipano, E., Dinur, Y.** (1969) Development of the parasite in the salivary gland of the adult tick. J Protozoology, 16 Suppl. 37.
7. **Karaer, Z.** (1984) *Hyalomma detrutum*'un Biyolojisi Üzerinde Araştırmalar. Doğa Bilim Derg D1, 8 (2). 139-148.



8. **Kurtpınar, H.** (1954) Türkiye Keneleri. Güven Matbaası, Ankara.
9. **Mazlum, Z.** (1969) Transmission of *Theileria annulata* by the crushed infected unfed, *H. dromedarii*. Parasitology, 59 (3): 597-600.
10. **Mimioğlu, M.** (1954) Die Schildzecken (Ixodiden) der Haustiere in der Türkei. Vet Fak Derg. 1,2.
11. **Mimioğlu, M., Göksu, K., Sayın, F.** (1969) Veteriner ve Tıbbi Protozooloji 2; Ankara Üniv Vet Fak Yay, 248.
12. **Neitz, W.O.** (1956) A consolidation of our knowledge of the transmission of tick borne disease. Onderstepoort J Vet Res. 27 (2), 115-163.
13. **Neitz, W.O.** (1957) Theileriosis, gonderioses and cytauxzoonosis. A review Onderstepoort J Vet Res. 27(3), 275-430.
14. **Pipano, E., Hadani, E.** (1974) Epidemiological and immunological aspects of *Theileria annulata* infection. Proceedings of the third international congress on parasitology. Munchen. I, 140-141.
15. **Pipano, E.** (1977). Basic principles of *Theileria annulata* control in Theileriosis Ed. J.B.Henson and M.Campbell. Report of Workshop held in Nairobi, Kenya 7-9 December.
16. **Samish, M., Pipano, E., Tsafirir, N.** (1975) Transmission of *Theileria annulata* to cattle by *Hyalomma detritum*. J Protozoology, 63 (2). 203-205.
17. **Sangwan, A.K., Chhabra, M.B., Samantaray, S.** (1989) Relative role of male and female *Hyalomma a.anatolicum* ticks in *Theileria* transmission. Vet Parasit, 31, 83-87.
18. **Sayın, F., Dumanlı, N.** (1982) Elazığ Bölgesinde Evcil Hayvanlarda Görülen Kene Türleri ile İlgili Epizootiyolojik Araştırmalar. Ankara Üniv Vet Fak Derg 29 (3-4): 344-362.
19. **Sayın, F., Dinçer, Ş., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Yukarı, B.A., Eren, H., Ünsüren, H.** (1998) Ankara Yöresinden Elde Edilen *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) İzolatları Üzerinde Araştırmalar. I Duyarlı Danalarda Enfekte Kanla Oluşturulan Tropikal Theileriosis'den İleri Gelen Morbidite ve Mortalite Olayları. T Parasitol Derg (2/99 Baskıda)
20. **Sayın, F., Dinçer, Ş., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Yukarı, B.A., Eren, H.** (1998) Ankara Yöresinden Elde Edilen *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) İzolatları Üzerinde Araştırmalar. 3. Laboratuvarında Steril Kene Türlerinin Yetiştirilmesi ve Muhafazası. Ankara Üniv Vet Fak Derg (Baskıda)
21. **Sergent, E., Donatian, A., Parrot, L., Lestoquard, F.** (1931) La transmission naturelle de la theileriose bovine dans l'Afrique du Nord. Arch Inst Pasteur. 9, 527-595. Algér (Ref Jber Vet Med, 2, 1091, 1932).
22. **Sergent, E., Donatian, A., Parrot, L., Lestoquard, F.** (1945) Etudes sur les piroplasmoses bovines. Inst Pasteur d'Algérie, Algér, 277-280.
23. **Walker, A.R., McKeller, S.B.** (1983) Observations of the separation of *Theileria* sporozoites from ticks. Inter J Parasitol, 13, 3, 313-318.
24. **Walker, A.R., McKeller, S.B.** (1983) The maturation of *T.annulata* in *H.a.anatolicum* stimulated by incubation or feeding to produce sporozoites. Vet Parasit, 13, 13-21.
25. **Walker, A.R., Fletcher, J.D., McKeller, S.B., Bell, L.J., Brown, C.G.D.** (1985) The maintenance and survival of *Theileria annulata* in colonies of *Hyalomma anatolicum anatolicum*. Ann Trop Med Parasitol, 79(2), 119-209.

#### Yazışma Adresi

Prof. Dr. Şükran Dinçer

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Protozooloji ve Entomoloji Bilim Dalı

06110 Dışkapı/ANKARA